



TITLE:

長鎖ノンコーディングRNA転写制御による哺乳類細胞の最終分化機構(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

山本, 直樹

CITATION:

山本, 直樹. 長鎖ノンコーディングRNA転写制御による哺乳類細胞の最終分化機構. 京都大学, 2016, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2016-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19885>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-01-01に公開; 許諾条件により要旨は2016-08-23に公開

(続紙 1)

京都大学	博 士（理 学）	氏名	山本 直樹
論文題目	長鎖ノンコーディングRNA 転写制御による哺乳類細胞の最終分化機構		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞の分化はいくつかのステップを経て進行する。特に最後のステップは最終分化と言われ、細胞は完全に増殖能を失い、ヒトの赤血球や眼のレンズ細胞では細胞核ですら消失してしまうことから不可逆的なステップと考えられている。しかし、その分子メカニズムについてはまだ明らかにされていない。</p> <p>本研究では、NGF を投与することで、試験管内で神経細胞へ分化することが知られている PC12 細胞を実験系として用い、この PC12 細胞が NGF と cyclicAMP との同時投与によって、不可逆的に神経細胞に分化する性質を利用して、この最終分化の分子メカニズムを明らかにしようというものである。具体的には、NGF を投与した場合には、増殖培地に戻すと細胞は再び細胞増殖相へと入って行くのに対し、NGF と cyclicAMP との同時投与した場合は、増殖培地に戻しても細胞増殖相へは入らずに分化したままであることを利用し、分化前の PC12 細胞(Undiff 細胞)、NGF 単独で分化させた細胞(Ndiff 細胞)、NGF と cyclicAMP との同時投与で分化させた細胞(NcAdiff 細胞)とで、発現遺伝子の比較を次世代シーケンサーを用いて行い、その中からプロモーター領域から下流の遺伝子とは逆方向性に転写される non-codingRNA(pancRNA)に着目して解析を行っている。</p> <p>なぜ pancRNA に着目したかという点、近年の研究から long non-coding RNA がエピゲノム制御タンパク質と相互作用して配列特異的にエピジェネティック制御を促していることが明らかになってきている点、また、PC12 細胞の最終分化を促す cyclicAMP シグナルを伝達する転写因子が、両方向性遺伝子プロモーターを選択的に標的としている点である。すなわち、両方向性プロモーター領域から遺伝子と逆方向に生み出される pancRNA に着目し、pancRNA を介した配列特異的エピジェネティック制御機構が cAMP シグナル下流で駆動することにより、細胞状態特異的なエピゲノム状態の形成に機能しているかの検証を行っている。</p> <p>その結果、多数の最終分化時に特異的な制御を受ける pancRNA を同定することに成功するとともに、リン酸化 Creb1 と Icer の 2 つが、PC12 細胞の cAMP 依存性不可逆分化過程において両方向性のプロモーターに作用する重要なエフェクター分子であることを示唆した。</p> <p>次に、それらの最終分化に発現制御を受ける pancRNA の中から cAMP 依存性転写因子による発現抑制を受ける pancNusap1 に着目し、pancNusap1 の loss-of-function と gain-of-function 実験により、pancNusap1 の直接的な発現抑制が、Nusap1 プロモーターのヒストン脱アセチル化を引き起こし、それにより Nusap1 が不可逆的に転写抑制された結果、PC12 細胞は細胞周期を停止し、最終分化を迎えることを明らかにすることに成功した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

このように、本研究ではRNA-seq を用いたゲノムワイド解析と、loss-of-function とgain-of-function実験による機能解析を組み合わせることで、pancRNA を介した配列特異的なエピジェネティック制御機構が最終分化細胞の不可逆分化に必須な分化細胞特異的なエピゲノム形成に関わっていることを明らかにしており、長い間謎とされてきた最終分化の分子メカニズムの一端を明らかにした研究として、博士学位にふさわしい研究として認定した。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成28年3月24日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：平成28年8月23日以降